

Aus der Frauenklinik—Charlottenburg
der Freien Universität Berlin
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Herbert Lax)

Die quantitative und qualitative Motilität menschlicher SPERMATOZOEN in verschiedenen Medien

(Ein Beitrag zur Untersuchung der ehelichen
Sterilität aus andrologischer Sicht)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Renate Messmacher
aus Bad Essen

1975

Aus der Frauenklinik—Charlottenburg
der Freien Universität Berlin
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Herbert Lax)

Die quantitative und qualitative Motilität menschlicher SPERMATOZOEN in verschiedenen Medien

(Ein Beitrag zur Untersuchung der ehelichen
Sterilität aus andrologischer Sicht)

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Renate Messmacher
aus Bad Essen

Referent : Professor Dr. med. F. L Ü B K E

Korreferent : Professor Dr. med. J. H A M M E R S T E I N

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 25 September 1975

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. Einleitung	3
2. Schrifttum	5
2.1. Motilität	5
2.2. Spermogramm	8
2.3. Medien	9
3. Untersuchungsgut und Methodik	12
3.1. Quantitative Motilität	15
3.2. Qualitative Motilität	16
3.3. Medien	16
4. Eigene Untersuchungen und Ergebnisse	18
5. Diskussion	36
5.1. Thema	36
5.2. Schwierigkeiten	36
5.3. Untersuchungsgang	37
a) Temperaturfaktor	37
b) Ejakulatmenge	37
c) Reihenfolge der Messungen	38
d) Zählmethode	38
e) Aus dem Rahmen fallende Werte	39
f) Medien	39
g) Konglomerate	41
6. Zusammenfassung	44
7. Literaturverzeichnis	45

1. EINLEITUNG

Bei der Diagnostik der ehelichen Sterilität gewinnen die andrologischen Aspekte zunehmend an Bedeutung. Während sich die Forschung intensiv mit der weiblichen Fortpflanzungsfähigkeit beschäftigt und einen Einblick in die morphologischen, endokrinen und funktionellen Voraussetzungen der weiblichen Fruchtbarkeit ermöglicht hat, sind die Kenntnisse des andrologischen Anteils an der menschlichen Fortpflanzung noch unzureichend.

Die Fertilitätsbeurteilung des Mannes stützt sich bisher fast ausschließlich auf die Spermauntersuchung. Hierfür werden verschiedene Kriterien herangezogen, die im Zusammenhang eine Aussage über die Fertilität des Mannes gestatten. Wie sich aber gezeigt hat, sind diese Kriterien allein häufig nicht ausreichend, so daß erst eine Beurteilung beider Ehepartner Aussagekraft gewinnt.

Die Untersuchung des Ehepaares rückt damit in den Vordergrund der Forschung. Die von SIMS angegebenen, später von HUHNER propagierten Postcoitalteste waren der erste Schritt mit dieser Zielsetzung. Die Penetrationsteste - in vivo oder in vitro - erwiesen sich als die bisher einzigen klinisch verwertbaren Kriterien; ihr Ergebnis ist einerseits von der Penetrierbarkeit des Cervixsekretes, andererseits von der Spermaqualität abhängig. Hierbei spielen Spermienzahl sowie quantitative und qualitative Motilität eine wichtige Rolle.

Diese Feststellungen führten zu der Anregung, das Motilitätsverhalten der Spermien genauer zu beobachten, um so möglicherweise eine zusätzliche Aussage über die Fertilität eines Spermas machen zu können.

Darüber hinaus interessierte die Frage nach der Beeinflußbarkeit der Spermienmotilität durch verschiedene Medien. Es sind zahlreiche Faktoren physikalischer und chemischer Art bekannt, die die quantitative und qualitative Motilität der menschli-

chen Spermien beeinflussen. Bis zum Zeitpunkt unseres Untersuchungsbeginnes im Jahre 1969 lagen jedoch nur wenige vergleichende Arbeiten vor, so daß die Beobachtung sowohl der quantitativen als auch der qualitativen Spermienmotilität in einigen miteinander zu vergleichenden Medien lohnenswert erschien.

2. SCHRIFTTUM

2.1 MOTILITÄT

Bis zum Jahre 1677 - dem Zeitpunkt der Entdeckung des beweglichen Spermatozoons durch HAM (27, 35) - bestand die andrologische Forschung im wesentlichen aus nicht zu beweisenden Vermutungen. Erst die Einbeziehung des Mikroskopes erweiterte das Wissen über Beschaffenheit, Funktionen und Bedeutung des menschlichen Spermiums. Bereits LEEUWENHOEK (27, 35) stellte fest, daß die Samenflüssigkeit Spermien enthalten müsse, um befruchtungsfähig sein zu können; er wies ebenso auf eine notwendige Lebensdauer der Spermien hin.

Um die Mitte bis Ende des vorigen Jahrhunderts wurde die Beweglichkeit der Samenfäden dann von verschiedenen Autoren wie z.B. LAMPERHOFF, KÖLLIKER, BENDA, BOVERI und BALLOWITZ (15, 35) eingehender untersucht. Sie beschrieben anatomische und physikalische Phänomene, die bei der Fortbewegung der Spermien eine Rolle spielen, jedoch war der Zusammenhang zwischen Motilität und Befruchtungsfähigkeit eines Spermiums noch weitgehend unklar. Die Anzahl der Samenfäden wurde als wichtigstes Kriterium für die Fertilität des Spermas angesehen.

ANKERMANN (15, 35) erklärte 1854 die Motilität rein physikalisch als eine Schwingung des Samenfadens, die durch ein Diffusionsgefälle zwischen Spermienzelle und umgebender Flüssigkeit entstehe.

SIMS widmete sich 1866 als erster der Bewegungsdauer der Spermien genauer. GUGGENBERGER (1922), BELONOSCHKIN (1939) und JOEL (1942) bestätigten im wesentlichen diese ersten Studien und ihre Ergebnisse. (35)

Mit den chemischen Grundlagen der Spermienmotilität befaßten sich schon frühzeitig ANKERMANN (1854) und QUATREFAGES (1890) (35). Zu Beginn bis zur Mitte des 20. Jahrhunderts wurden einzelne Wirkstoffe und Faktoren, die die Spermienmotilität beeinflussen, untersucht. (s.Tab. 1 u.2)

T A B E L L E 1

Die Spermienmotilität fördernde Faktoren

I. Chemischer Art:

- 1) BAKER's - Lsg.
- 2) JOEL - Lsg.
- 3) LOCKE - Lsg. (27, 38)
- 4) Fruktose - Lsg. (35)
- 5) Glukose - Ringer - Lsg. (5%ig)
- 6) Ammoniumchlorid - Lsg. (isoton) (5, 21, 38)
- 7) Zitrat - Lsg. (37)
- 8) Blutserum (Ovulationsserum) (18)
- 9) Vitamine (Vit. A, E, Thiamin, Nikotinsäure-
amid) (15, 34, 35)
- 10) Hormone (Spermin u. Spermidin, Prostata-
sekret, Nebenhodenextrakt, PMS)
(15, 26)
- 11) Enzyme (Katalase, Protease) (25, 28)
- 12) Tutokain (12, 15, 33)
- 13) Schwefelwasserstoff (38)

II. Physikalischer Art:

- 1) Luftabschluß (38)
- 2) Sauerstoffmangel (38)
- 3) Temperaturoptimum (5, 15, 38)
- 4) pH - Optimum (5, 15, 23, 37)
- 5) Verdünnung des Spermasekretes (38)

T A B E L L E 2

Die Spermienmotilität hemmende Faktoren

I. Chemischer Art:

- 1) Salzsäure - Lsg. (10%ig) (23, 38)
- 2) Sauerstoff (13, 15, 23, 38)
- 3) Wasserstoffsuperoxid (23, 28)
- 4) Sublimat (15)
- 5) Lysol (15)
- 6) Quecksilber, Kalium, Blei, Rubidium, Silber (15)
- 7) Kokain, Opium (15)
- 8) Laktoflavin (15, 35)
- 9) Menstrualblut, Gravidenserum (18)
- 10) Antikonzeptiva (15)
- 11) Diverse Medikamente (27)

II. Physikalischer Art:

- 1) Acidose (5)
- 2) Hyperosmolarität (3)
- 3) Röntgenstrahlen (32, 34)

III. Krankheiten:

- 1) Lokale Entzündungen (31, 36)
- 2) Venerische Infektionen (38)
- 3) Diphtherie (33, 34)
- 4) Tuberkulose (15, 33, 38)
- 5) Typhus (38)
- 6) Mumps - Orchitis (während oder nach der Pubertät) (23, 38)
- 7) Nikotin - u. Alkoholabusus (1, 15, 28, 33, 38)

Es wurde u.a. herausgefunden, daß neben einer optimalen umgebenden Lichtintensität die Umgebungstemperatur eine wichtige Rolle für die Beweglichkeit der Spermien spiele.

Die Angaben über ein Temperaturoptimum schwanken allerdings sehr. So nannten HAMMOND und ASDEL, WALTON und AMANTEA (1926-28) $9 - 10^{\circ} \text{C}$ (15), MOENCH (1931) $8 - 10^{\circ} \text{C}$ (23), LOTZE und SCHULTZ (1932) $27 - 30^{\circ} \text{C}$ (18), SEGRE und VALLE (1935) Temperaturen bis 25°C , JOEL (1942) 18°C (15) und schließlich BELONOSCHKIN (1947) 20°C (35) als günstigste Umgebungstemperatur.

SPALLANZANI erwähnte bereit 1795 (35) die ständige Kühlung der Spermien als Möglichkeit zur Motilitätserhaltung bzw. Wiederbelebung.

STIEGLER (1914) und KNAUS (1932) (35) sahen in einem warmen Umgebungsmilieu eine negative Beeinflussung der Spermienmotilität.

Außerdem wurde z.B. durch GIAROLA und PAGANI (1950) (35) darauf hingewiesen, daß eine Spermaverdünnung durch eine geeignete Lösung die Bewegungskapazität verlängere.

Um diese Zeit wurde immer deutlicher, daß es eher auf die Motilität als die Anzahl der Spermien in bezug auf ihre Fertilität ankomme (19).

2.2. SPERMIOGRAMM

Die einzelnen Daten wie Menge, Farbe, Konsistenz, Geruch und pH-Wert des Ejakulates, Anzahl der Spermien pro Milliliter, ihre Morphologie, quantitative und qualitative Motilität wurden im sog. Spermioogramm zusammengefaßt, das seit nur wenigen Jahrzehnten seine Bedeutung für die Beurteilung der männlichen Fertilität erlangt hat (34, 35, 38). Heute wird es durch weitere Angaben wie Fruktoseverbrauch der Spermien, Eosintest, Karenzzeit u.ä. ergänzt.

2.3. MEDIEN

Um die Jahrhundertwende wurde die Motilität als besonders wichtig für die Befruchtungsfähigkeit eines Spermiums erkannt, und man begann, verschiedene Lösungen, die fähig sein sollten, unbewegliche oder träge Spermien "wiederzubeleben", auszutesten. DOEPFNER und FREIHOFF testeten allein über 200 Lösungen 1956 in bezug auf ihre Verwendbarkeit bei der künstlichen Insemination (5).

Zu diesen sog. Wiederbelebungsflüssigkeiten zählen

1) BAKERSche Lösung:

Glukose (3 %)
 Na_2HPO_4 (0,6 %)
 KH_2PO_4 (0,01 %)
NaCl (0,2 %)

2) JOELSche Lösung:

Dextrose (5,42 %)
N/8 MgCl

3) RINGERSche Lösung:

NaCl (0,65 %)
KCl (0,014 %)
 NaHCO_3 (0,02 %)
 CaCl_2 (0,012 %)
 NaH_2PO_4 (0,001 %)

Der BAKERSchen Lösung wandten sich insbesondere JOEL und TSCHUMI (15) und MOENCH (23) zu.

MOENCH zog der BAKERSchen und JOELSchen Lösung die Glukose-Ringer-Lösung vor, da erstere die Spermien zu sehr stimulieren und damit den Energievorrat der Samenfäden zu rasch erschöpfen würden (23). MOENCH wies damit auf die Bedeutung einer zur Befruchtung ausreichenden Bewegungsdauer hin.

VASTERLING empfahl ebenfalls 5%ige Glukose-Ringer-Lösung neben einer isotonen NH_4Cl -Lösung und der LOCKE-Lösung (CaCl_2 , NaHCO_3 , KCl,

NaCl und Sacch. uvicum) (38). Glukose-Lösung in verschiedenen Konzentrationen diente neben MOENCH 1930 (22,23) auch METTENLEITER um 1920 und REDENZ 1933 (15) als motilitätssteigerndes Medium.

Der Ringer-Lösung und ihrer Modifikation widmeten sich HIROKAWA (um 1900) (15), GRANZOW (1932) (12, 15), MAC LEOD (1941), HUGGINS (1945), IVANOV und KASSAVINA (1946) (13), IBARRA (1947), GIAROLA und PAGANI (1950), JOEL (1953) (15), SCHWARTZ (1955) (29, 30), MOENCH (1955) (23), VASTERLING (1960) (38), BOTELLA-LLUSIA (1967) (2) und MILBRADT (1969) (21).

Neben den Wiederbelebungsflüssigkeiten stand das natürliche Milieu für die Spermien, das Cervixsekret der Frau, im Vordergrund. ROEMMELE kam 1927 zu der Ansicht, daß bestimmte Voraussetzungen im Cervixschleim für die Penetrationsfähigkeit der Spermien erfüllt sein müßten (15). SEELIGMANN (1896) (35), MASON (1929) (15), CARY (1930) (35), KURZROK und MILLER (1932), PALACIOS COSTA und PASTORINI, MELVILLE und WATSON (1939) (15) sowie SEYMOUR (1939) (35), SCHWARTZ (1955) (29), WILSON (1956) (40), BOTELLA-LLUSIA (1967) (2), MOGHISSI (1969) (24), MOGHISSI und SYNER (1970) (25), KELLERMAN (1970) (16) und ebenfalls WILLIAMS (1970) (36) beschäftigten sich mit der Struktur und den Bedingungen für die Penetrierbarkeit des Cervixsekretes eingehender.

Aus der Vorstellung heraus, daß das Cervixsekret ein Schleim ist und das Sperma Hyaluronidase enthält - letzteres wurde 1928 von DURAN - REYNALS entdeckt (35) - bot sich ein Zusatz von Hyaluronidase als Medium an. ROWLANDS (15, 17, 23), KEPP und VASTERLING (1954) (17), MOGHISSI (1970) (25) und DÖRING (1971) (6) gingen dieser Überlegung nach, doch wichen ihre Ergebnisse hinsichtlich einer motilitätsfördernden Wirkung der Hyaluronidase weit voneinander ab. VASTERLING (38) fand keine Verbesserung der Beweglichkeit, was er damit erklärte, daß ausschließlich die aus dem Mesoderm gewinnbaren sauren Mucopolysaccharide von Hyaluronidasen gespalten werden, nicht aber die neutralen des

Cervixsekretes. DÖRING (6) berichtete, daß Hyaluronidasezusatz bei der Insemination keine Konzeptionsverbesserung gebracht habe, und er damit im Gegensatz zu CHANG, KURZROK (15, 17, 23) u.a. stehe.

Auf der Suche nach motilitätssteigernden Medien rückte das Blutserum in den Vordergrund. Zuerst wurde die belebende Wirkung verschiedener Tierseren entdeckt. (HIROKOWA 1909, METTENLEITER 1925 (15), BODNAR und KAMNIKER 1925 (15, 18), GRANZOW 1932 (12)).

ECKERLING (1960) (7, 21), BOTELLA-LLUSIA (1967) (2), SCHIRREN (1969) (28), MILBRADT (1969) (21) und WILLIAMS (1970) (39) untersuchten menschliches Serum. Hierbei wurden auch die verschiedenen Cyklusphasen der Frau mitberücksichtigt. So verglichen LOTZE und SCHULTZ 1932 bereits Menstruations-, Ovulations- und Gravidenserum miteinander und kamen zu dem Schluß, daß Menstruationsserum sowie auch Gravidenserum als spermatocid angesehen werden muß. Serum, das zum Zeitpunkt der Ovulation gewonnen wurde, erwies sich dagegen als besonders günstig für die Spermienbeweglichkeit (18).

SCHIRREN und MILBRADT haben sich 1969 mit der Spermienmotilität in jeweils zwei Vergleichsmedien beschäftigt. SCHIRREN (28) verglich Sperma mit Katalasezusatz mit Sperma in haemolysiertem Blut. Er kam zu dem Ergebnis, daß die Katalase durch den Abbau des motilitätshemmenden Wasserstoffsuperoxides die Beweglichkeit der Spermien verbessere, jedoch weit hinter der stimulierenden Wirkung von haemolysiertem Blut zurückbleibe. 107 Versuche wurden durchgeführt, wobei die quantitative und qualitative Motilität jeweils nach 3, 6, 9 und 24 Stunden bestimmt wurde.

MILBRADT (21) untersuchte die Motilität zentrifugierter Spermien im Blutplasma und in physiologischer Kochsalzlösung. Ihm standen insgesamt 17 Patienten zur Verfügung. Dem Ejakulat wurde Penicillin hinzugesetzt und nach 2 sowie 24 Stunden die quantitative Beweglichkeit ermittelt. Es zeigte sich, daß zentrifugierte Spermien im Blutplasma am zahlreichsten am Leben blieben, während das Kochsalzmilieu sich ungünstig auf die quantitative Spermienmotilität auswirkte.

3. UNTERSUCHUNGSGUT und METHODIK

Für die vergleichenden Untersuchungen der quantitativen und qualitativen Spermienmotilität in verschiedenen Medien wurde menschliches Sperma benötigt. Es standen Probanden zur Verfügung, die wegen ehelicher Sterilität die Sprechstunde für kinderlose Ehepaare an der Frauenklinik Charlottenburg der Freien Universität Berlin im Jahre 1969 aufsuchten. Obwohl es sich um ein derart ausgewähltes Spermamaterial handelte, kann es dennoch als weitgehend repräsentativ für die Gesamtstruktur der männlichen Bevölkerung angesehen werden, da unsere Untersuchungen auf Grund des Spermioogrammes ergaben, daß wir es im wesentlichen mit fertilem Sperma zu tun hatten.

Zu Beginn einer jeden Untersuchung wurden die für die eheliche Sterilität in Frage kommenden Daten den Akten entnommen bzw. vom Probanden erfragt. Das verwandte Untersuchungsschema (s. Abb.) gibt Aufschluß über die Reihenfolge der jeweils ermittelten Fakten und Messungen.

Wir untersuchten Menge, makroskopische Beschaffenheit sowie den pH-Wert des durch Masturbation gewonnenen Spermas.

Die für unsere Fragestellung erforderlichen mikroskopischen Motilitätsbestimmungen wurden mit einem 10er Okular und einem 40er Objektiv durchgeführt. Zunächst wurden quantitative und qualitative Motilität im unverdünnten Sperma mit der Übersichtsvergrößerung bestimmt. Da sich auf Grund ihrer Konsistenz die Samenflüssigkeit nicht zum Beschicken einer Zählkammer eignete, eine Sperrmaverdünnung jedoch eine Änderung des Motilitätsverhaltens der Spermien hervorgerufen hätte, mußte ein Schätzungsverfahren angewandt werden: So wurden zur Bestimmung der quantitativen Motilität 200 Spermien - nach beweglichen und unbeweglichen differenziert - ausgezählt, d.h. die einzelnen Gesichtsfelder addiert, bis die Endsumme 200 Spermien ergab. Diese Zahl ist willkürlich gewählt worden. Das gleiche Verfahren fand bei den Sperma-Cervixschleim-Gemischen Verwendung, so daß zwischen den Ergebnissen der Motilität im unverdünnten Sperma und im Cer-

vixschleimmedium optimale Vergleichsmöglichkeiten bestehen. Für die verschiedenen anderen Medien stand die NEUBAUER-Zählkammer zur Verfügung, da sich verdünntes Sperma für dieses objektive Zählverfahren eignete.

UNTERSUCHUNGSSCHEMA

Datum:

Name:
Adresse:

Vorname:

Alter:

Karenz: Tage
pH-Wert:

Ejakulatmenge:
Spermienzahl:

ml Viskosität: cm
Mill./ml

QUANTITATIVE MOTILITÄT:

QUALITATIVE MOTILITÄT:

Übersicht:
Baker-Lsg.:
Glukose-Ringer-Lsg.:
Serum:
Serum d. Ehefrau:
Heterologes Serum:
CKS d. Ehefrau:
Heterologer CKS:
CKS + Serum:

Ehefrau:

Vorname:

Alter:

Menses:

Partus:

Abortus:

BT: °C

CT: Cervixschleimmorphe:
Spinnbarkeit: cm

Frau aus der Sprechstunde f. kinderlose Ehepaare:

Name: _____

Vorname:

Alter:

Menses:

Partus:

Abortus:

BT: °C

CT: Cervixschleimmorphe:
Spinnbarkeit: cm

Differentialspermiogramm:

Normale:
Pathologische:
Unreife:

Besonderes:

Dauer d. Kinderwunsches:

Mumps:

Tbc:

GO:

Operationen:

Nikotin-, Alkoholabusus:

Beruf:

Spermienkonglomerate:

BT = Basaltemperatur

CT = Cyklustag

3.1. QUANTITATIVE Motilität

Die Spermienzählung sowie die Bestimmung der quantitativen Motilität erfolgte ebenfalls mit Hilfe der NEUBAUER-Zählkammer. Fünf Gruppenquadrate wurden in konstanter Reihenfolge mäanderförmig ausgezählt, das Ergebnis dann mit der Anzahl der ausgezählten Gruppenquadrate, deren Fläche, Höhe und der verwandten Sperma verdünnung ins Verhältnis gesetzt:

$$\frac{\text{Anzahl der gezählten Spermien}}{\text{Anzahl der Gruppenquadrate} \times \text{Fläche} \times \text{Höhe} \times \text{Verdünnung}} = \text{Spermienanzahl pro Kubikmillimeter.}$$

Das Ergebnis mit 1000 multipliziert ergab die Spermienanzahl pro Kubikzentimeter, d.h. pro Milliliter.

Bsp.: $\frac{40 \text{ ausgezählte Spermien}}{5 \times 1/25 \times 1/10 \times 1/10} = \frac{40 \times 25 \times 10 \times 10}{5} =$
 $20\,000 \text{ Spermien pro mm}^3 = 20 \text{ Millionen Spermien pro cm}^3 \text{ bzw. ml.}$

Die im Nenner angegebenen Zahlen waren mit 5 für die Zahl der Gruppenquadrate, 1/25 für die ausgezählte Fläche und 1/10 für die Höhe der NEUBAUER-Zählkammer konstant. Das Sperma wurde mit den verschiedenen Medien 1:10 verdünnt.

Für die Bestimmung der Gesamtzahl der Spermien diente Methylenblau als geeignetstes, allgemein verwandtes Medium. Es immobilisiert die Spermien vollständig, was ihre Auszählung erst ermöglicht.

Zur Ermittlung der quantitativen Motilität in den einzelnen Medien wurden nur die abgetöteten, d.h. bewegungslosen Spermien gezählt und deren prozentualer Anteil an der Gesamtzahl (Berechnung s.o.) errechnet. Diese Prozentzahl mußte von 100 % subtrahiert werden, um den Anteil der noch motilen Spermien zu ergeben.

Beispiel: Gesamtzahl der Spermien: 20 Mill./ml
Ausgezählte unbewegliche
Spermien (z.B. in Ringer-
Lösung): 15 Mill./ml
15 Mill. entsprechen 75 % der Gesamtzahl.
Folglich sind $100 \% - 75 \% = 25 \%$ noch
beweglich.

3.2. QUALITATIVE Motilität

Die qualitative Motilität wurde mittels der SILLØ-SEIDL-Linienmethode ermittelt. Dabei war es erforderlich, daß Spermien unterschiedlicher Bewegungsqualität eine bestimmte Strecke - im Okular durch zwei parallel zueinander verlaufende Linien markiert - zurücklegten. Die dazu benötigte Zeit wurde mit der Stoppuhr gemessen. Wir notierten die Geschwindigkeiten von jeweils 10 Spermien und errechneten dann den Mittelwert. Das Ergebnis erhielt die Einheit Sekunden pro Millimeter. Für diese Messungen wurde ein Spezialokular mit einer 12,5fachen Vergrößerung und der oben erwähnten Linienmarkierung verwandt.

3.3. MEDIEN

Als Medien für die Motilitätsuntersuchungen dienten:

- a) BAKER-Lsg.
- b) 5%ige Glukose-Ringer-Lsg.
- c) Serum verschiedener Spender
- d) Cervixsekret der Ehefrau
- e) Cervixsekret einer anderen Frau
- f) Cervixsekret und Serum (versch. Spender)
- g) versuchsweise Trasylol und Hyaluronidase

Die Untersuchungen wurden 1, 3, 6 und 24 Stunden post ejaculationem durchgeführt. Vergleichswerte der Literatur beziehen sich meist auf Ergebnisse, die bereits eine halbe Stunde p.e.

ermittelt wurden. Aus technischen Gründen konnten wir erst eine Stunde p.e. beginnen, da die Gewinnung des Cervixsekretes in der Polikliniksprechstunde gerade diesen Zeitraum beanspruchte.

Das Cervixsekret wurde mit Hilfe einer heparinisierten Glaskapillare, deren geringes Lumen eine Steigung garantierte, entnommen.

Sperma und Cervixschleim wurden bei 37° C im Brutschrank aufbewahrt, während die anderen Medien zwischen den einzelnen Untersuchungsängern im Kühlschrank gehalten wurden, da sich im Verlauf der Vorversuche zeigte, daß besonders die BAKERSche und Ringer-Lösung aus uns nicht bekannten Gründen höhere Temperaturen nicht vertrugen. Es war zumindest auffällig, daß die Lebensdauer der Spermien sowie auch die Bewegungsintensität der Spermien in den erwärmten Lösungen sehr viel geringer war.

4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE

Es wurden 70 Männer untersucht, von denen 6 mehrfach kontrolliert wurden.* In 29 Fällen konnte die Ehefrau mit in die Untersuchungen einbezogen werden; in 8 weiteren Fällen bestimmten wir die Spermienmotilität des Ehemannes in heterologem Cervixsekret, die Penetrierbarkeit des Cervixsekretes der Ehefrau mit Hilfe der Spermien eines anderen Mannes. 31 mal stand insgesamt heterologer Cervixschleim zur Verfügung, in nur 21 Fällen Cervixsekret der Ehefrau.

Die Spermioграмme lassen sich somit in drei Gruppen einteilen:

- 1) 22 Untersuchungen mit verschiedenen Medien, ausgenommen Cervixsekret.
- 2) 31 Untersuchungen mit heterologem Cervixsekret zum Ovulationstermin.
- 3) 29 Ehepaaruntersuchungen mit insgesamt 21 Cervixsekreten der Ehefrau: in den übrigen 8 Untersuchungen war nur heterologes Sekret verfügbar:
In den 21 Fällen mit dem Cervixsekret der Ehefrau sind 4 Untersuchungen enthalten, in denen zusätzlich heterologes Sekret verwandt werden konnte. Diese 12 Fälle (8 + 4) sind in der Gruppe 2 enthalten.

Die folgende Tabelle soll verdeutlichen, in welchen Medien die einzelnen Beobachtungen des Motilitätsverhaltens der Spermien gemacht wurden:

Anzahl d. Spermauntersuchg.	Baker	Gluk.-Ringer	Eigen-serum	Serum d. Ehefrau	heterol. Serum	Ehefrau-CKS	heter. CKS	CKS-Serum-Gemisch
70	+	+	+		+			
31	+	+	+		+		+	
29	+	+	+	+	+			
26	+	+	+		+		+	+
21	+	+	+	+	+	+		

CKS = Cervixsekret

Mit Hyaluronidase und Trasylol wurden jeweils nur fünf Untersuchungen durchgeführt.

Die Hyaluronidase bot sich als 'spreading factor' für den Cervixschleim an; die eigenen Untersuchungen fielen jedoch negativ aus, d.h. die Spermienmotilität wurde durch Hyaluronidase nicht gefördert, sondern gegenüber dem Nativpräparat gehemmt.

Fünf weitere Versuche mit dem Proteinase-Inhibitor Trasylol erwiesen sich auch als unbrauchbar, da alle Spermien abgestorben zu sein schienen.

Wir beobachteten - ebenso wie SELENKA (15) - bei einigen Versuchen das Phänomen der Synzygie. Dabei handelt es sich um die Kopplung zweier Spermien aneinander, wodurch eine bessere Motilität erzielt wird. Diese Beobachtung gelang in allen Medien. Der Ort der Kopplung beider Spermien - sei es Kopf, Hals, Mittelstück oder Schwanzteil - schien zu variieren.

Neben dem Begriff der Konglomeratbildung einer verschieden großen Anzahl von Spermien und der soeben erwähnten Synzygie wird noch von der Spermienagglutination, hervorgerufen durch Spermaagglutinine, gesprochen. Drei der von uns untersuchten Frauen hatten in einer früheren Ehe Kinder geboren, und bei ihren jetzigen Ehemännern fand sich kein Anhalt für eine In- oder Subfertilität. Es mußte also daran gedacht werden, daß gegen

das Sperma des jetzigen Ehemannes Antikörper im Cervixschleim gebildet wurden. Die Klärung dieser Frage geht über den Rahmen der Thematik dieser Arbeit hinaus.

Die Beschaffung des Cervixsekretes war mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden; daher konnte nur ein Teil der Untersuchungen - insgesamt 52 - mit diesem Medium durchgeführt werden. Zum Zeitpunkt der zu erwartenden Ovulation war häufig kein Östrogenstimuliertes Sekret zu gewinnen. Wir machten die Beobachtung, daß Cervixschleim, der einen Tag oder länger bei 4° C aufbewahrt wurde, keinen Qualitätsverlust in bezug auf seine Penetrierbarkeit zu erleiden schien. Ohne diese Beobachtung hätten wir weit weniger Untersuchungen mit Cervixsekret vorlegen können. Allerdings mußten die Penetrierbarkeitskontrollen an den darauffolgenden Tagen notwendigerweise mit anderem Sperma durchgeführt werden. Verglichen mit dem gerade gewonnenen Cervixschleim einer anderen Frau waren die Unterschiede in der Penetrierbarkeit aber so gering, daß wir uns zur Verwendung auch älteren Cervixschleimes entschlossen.

Die ERGEBNISSE der gesamten Untersuchungen lassen sich in drei Gruppen einteilen:

- 1) 40 Fälle, in denen sowohl die quantitative als auch die qualitative Spermienmotilität im Serum am günstigsten von allen Medien war.
- 2) 23 Fälle, in denen entweder die quantitative oder die qualitative Spermienmotilität im Serum am günstigsten war.
- 3) 7 Fälle, in denen die Seren von anderen Medien übertroffen wurden.

Die Abbildungen zeigen das Verhältnis der einzelnen Medien zueinander. Es wurden jeweils zwei Beispiele einer Gruppe entnommen.

Die Abbildungen konnten nur die 1-, 3- und 6-Stundenmessungen wiedergeben, da nach 24 Stunden nur noch selten eine Beweglichkeit der Spermien beobachtet wurde. Außerdem handelte es sich in diesen Fällen um ortsständige Zitterbewegungen, die nicht meßbar waren.

Erläuterung der in den folgenden Abbildungen
verwandten Symbole;

	Übersicht
	BAKER - Lsg.
	Glukose - Ringer - Lsg.
	Serum des Mannes
	Serum der Ehefrau
	Serum einer Frau
	CKS der Ehefrau
	CKS einer Frau
	CKS einer Frau + Serum des Mannes
	CKS einer Frau + Eigenserum
	CKS einer Frau + Serum der Ehefrau

Gruppe 1

Quantitative Motilität

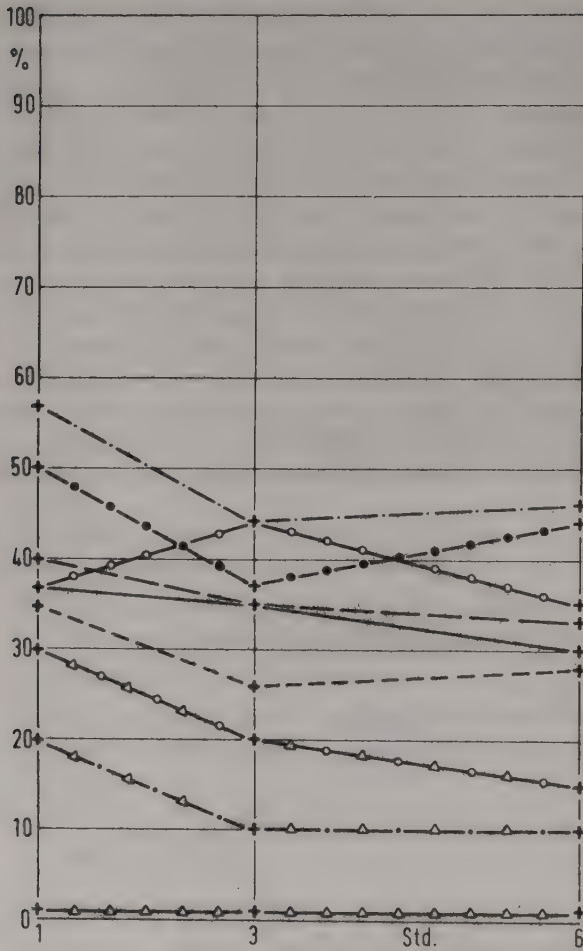


Abb. 1a Beispiel aus der Gruppe 1, 40 Untersuchungen umfassend, in denen sowohl die quantitative als auch die qualitative Spermienmotilität in Serum am günstigsten war.

Gruppe 1

Qualitative Motilität

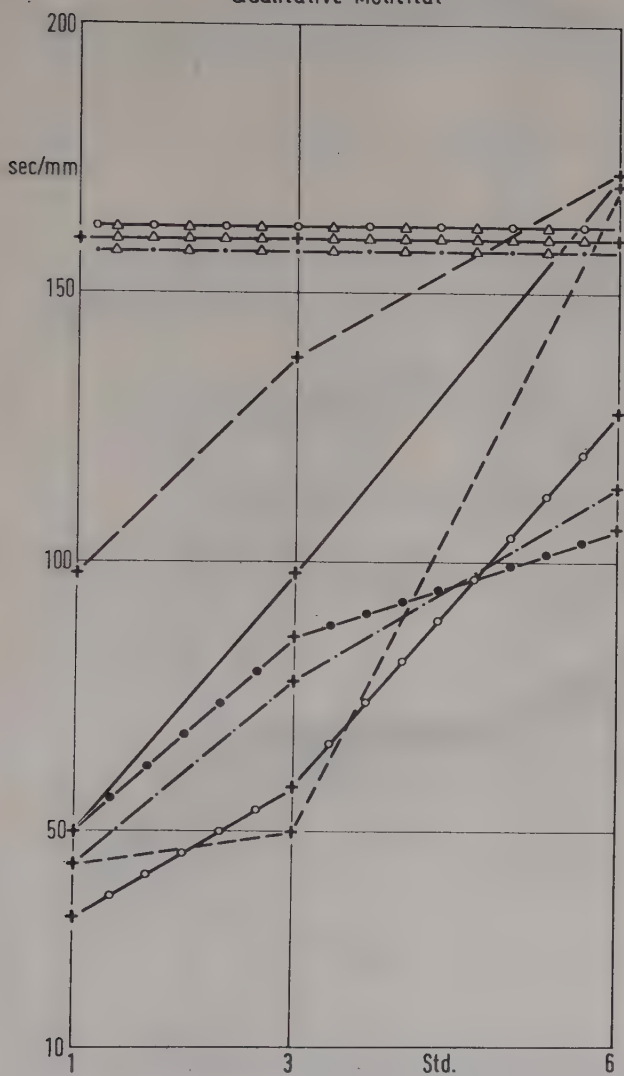


Abb. 1b Dasselbe Beispiel aus der Gruppe 1, die qualitative Spermienmotilität betreffend.

Gruppe 1

Quantitative Motilität

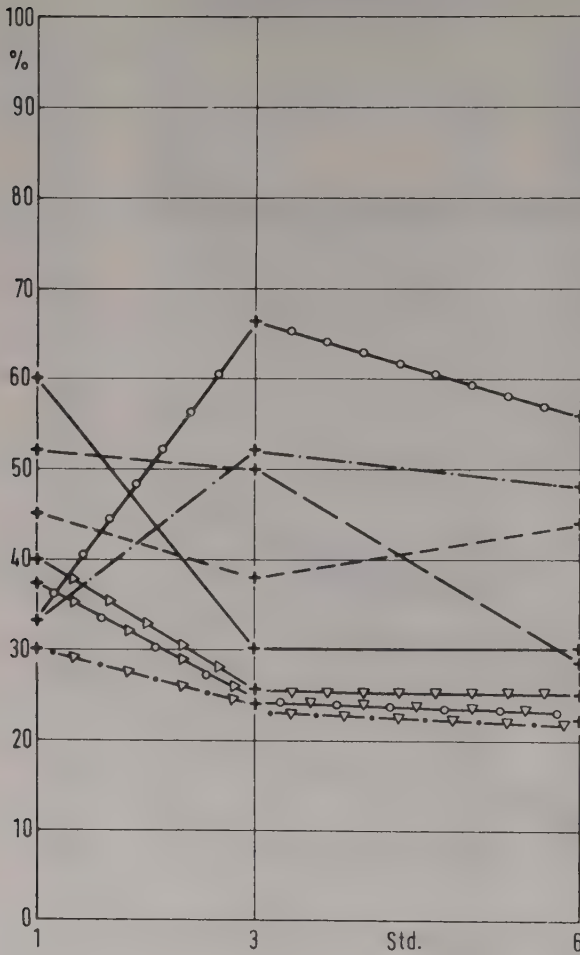


Abb. 2a Ein weiteres Beispiel aus der Gruppe 1, 40 Untersuchungen umfassend, in denen sowohl die quantitative als auch die qualitative Spermienmotilität im Serum am höchsten war.

Gruppe 1

Qualitative Motilität

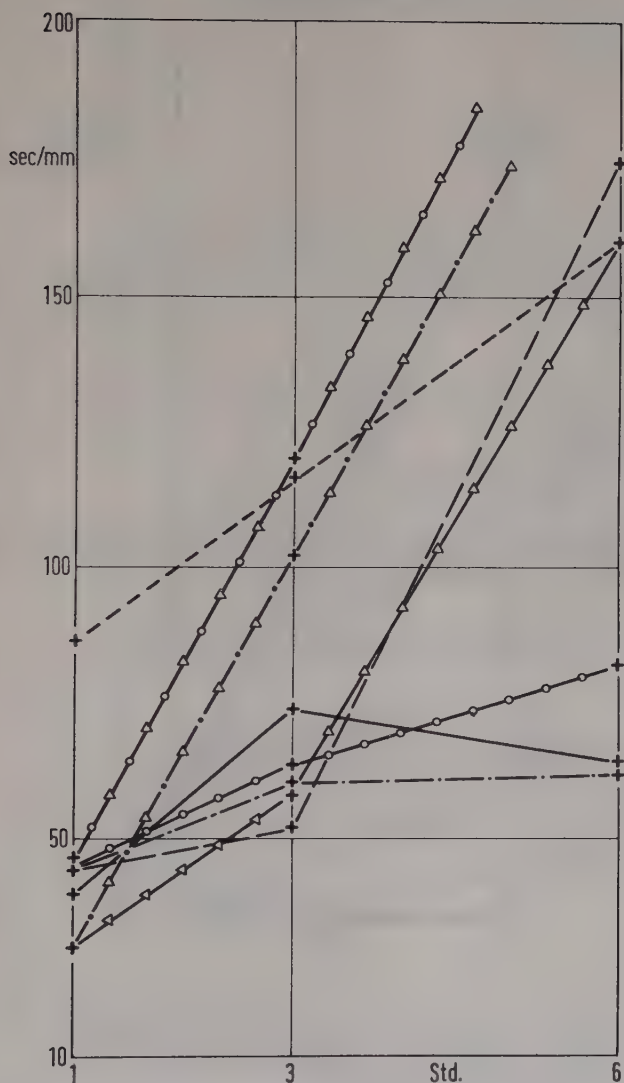


Abb. 2b Dasselbe Beispiel aus der Gruppe 1, die qualitative Spermienmotilität betreffend.

Gruppe 2

Quantitative Motilität

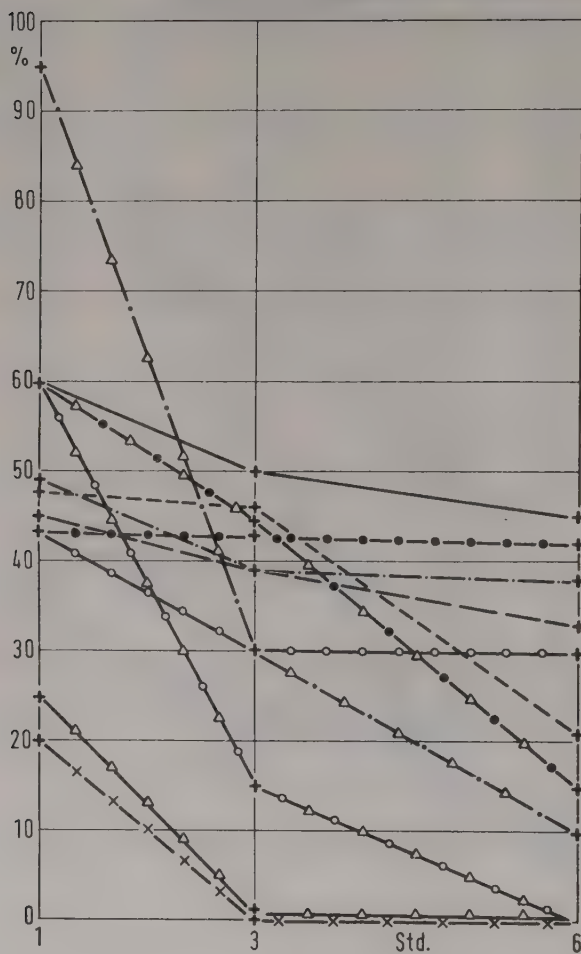


Abb. 3a Beispiel aus der Gruppe 2, 23 Untersuchungen umfassend, in denen entweder die quantitative oder die qualitative Spermienmotilität im Serum am günstigsten war.

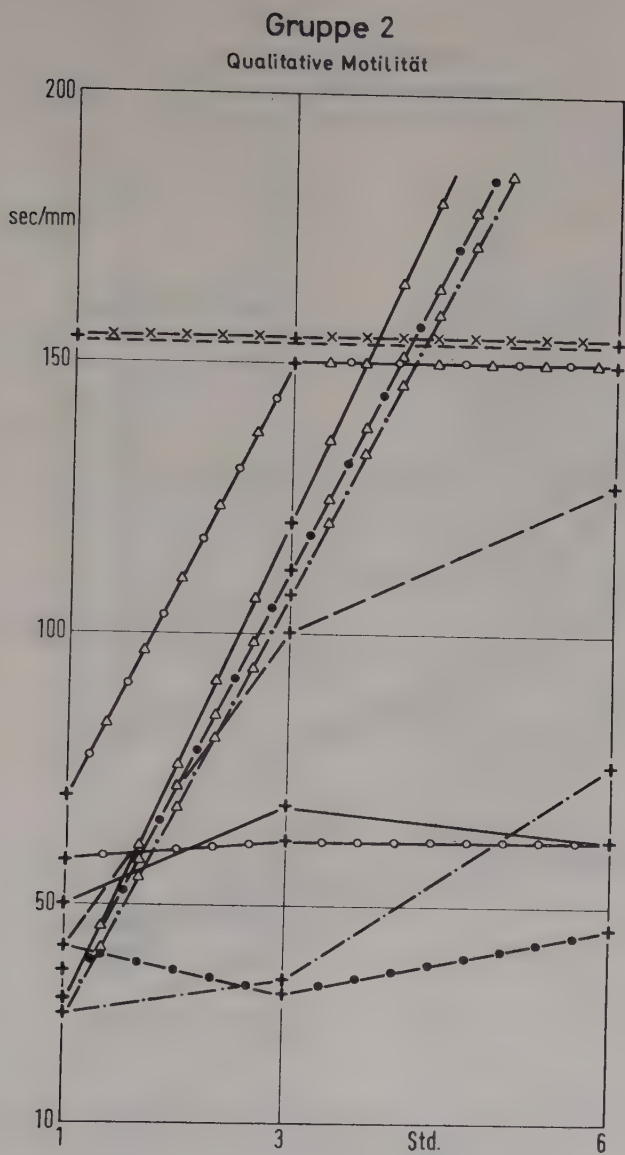


Abb.3b Dasselbe Beispiel aus der Gruppe-2, die qualitative Spermienmotilität betreffend.

Gruppe 2

Quantitative Motilität

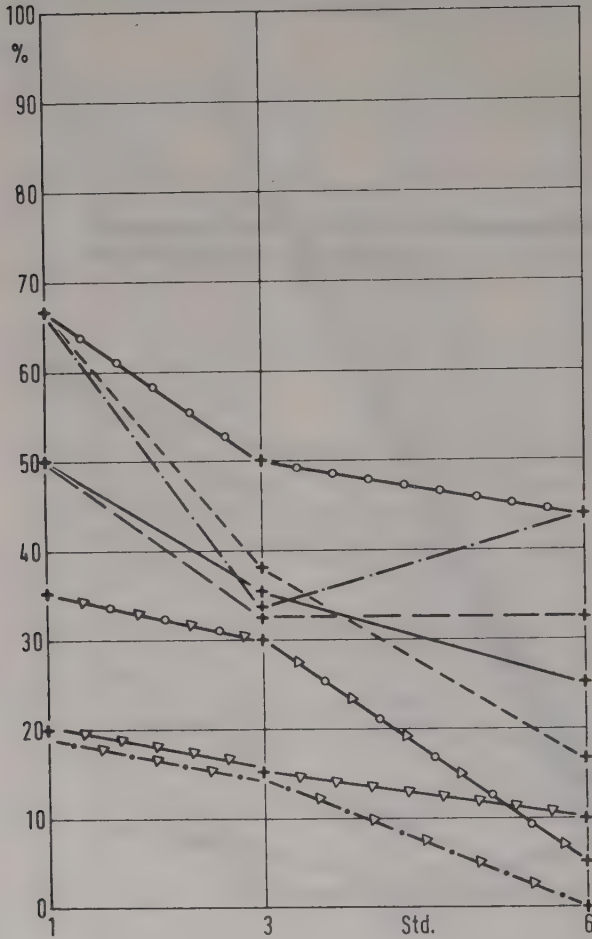


Abb. 4a Ein weiteres Beispiel aus der Gruppe 2, 23 Untersuchungen umfassend, in denen entweder die quantitative oder die qualitative Spermienmotilität im Serum am günstigsten war.

Gruppe 2

Qualitative Motilität

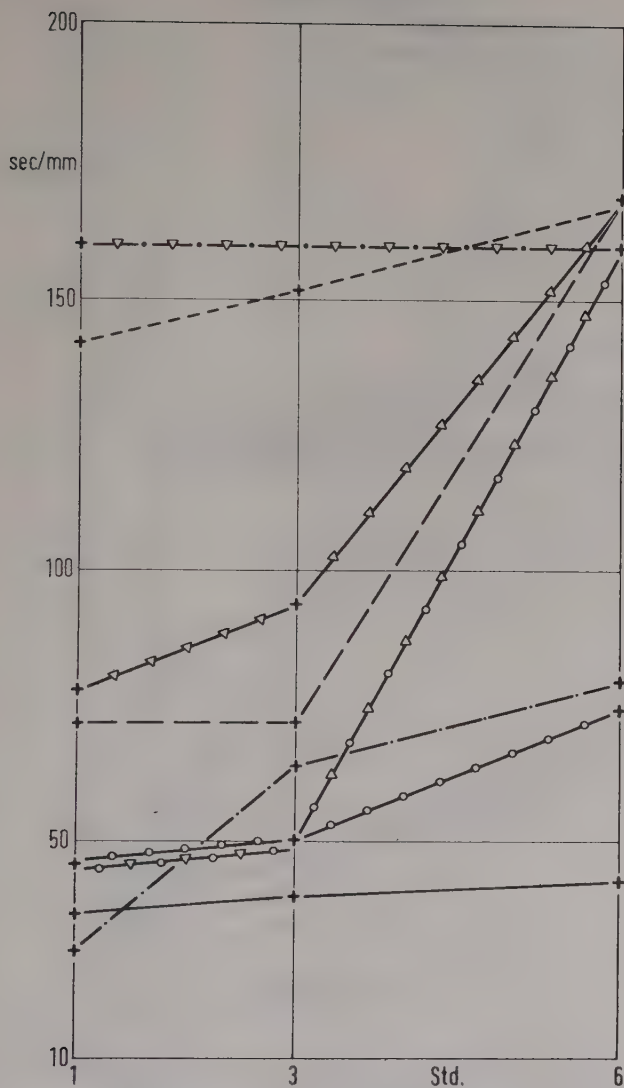


Abb. 4b Dasselbe Beispiel aus der Gruppe 2, die qualitative Spermienmotilität betreffend.

Gruppe 3

Quantitative Motilität

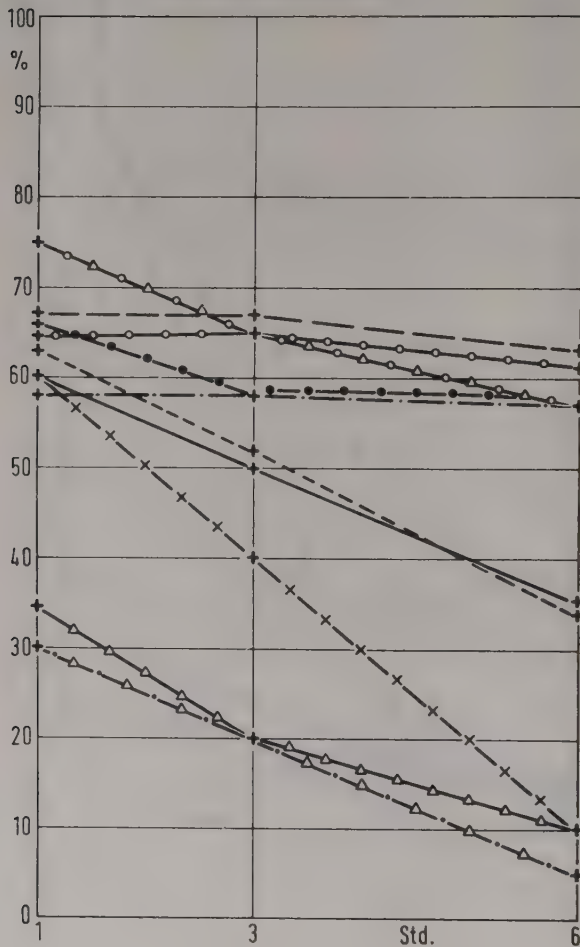


Abb. 5a. Beispiel aus der Gruppe 3, 7 Untersuchungen umfassend, in denen das Serum von anderen Medien in bezug auf die quantitative oder qualitative Spermienmotilität übertroffen wurde.

Gruppe 3 Qualitative Motilität

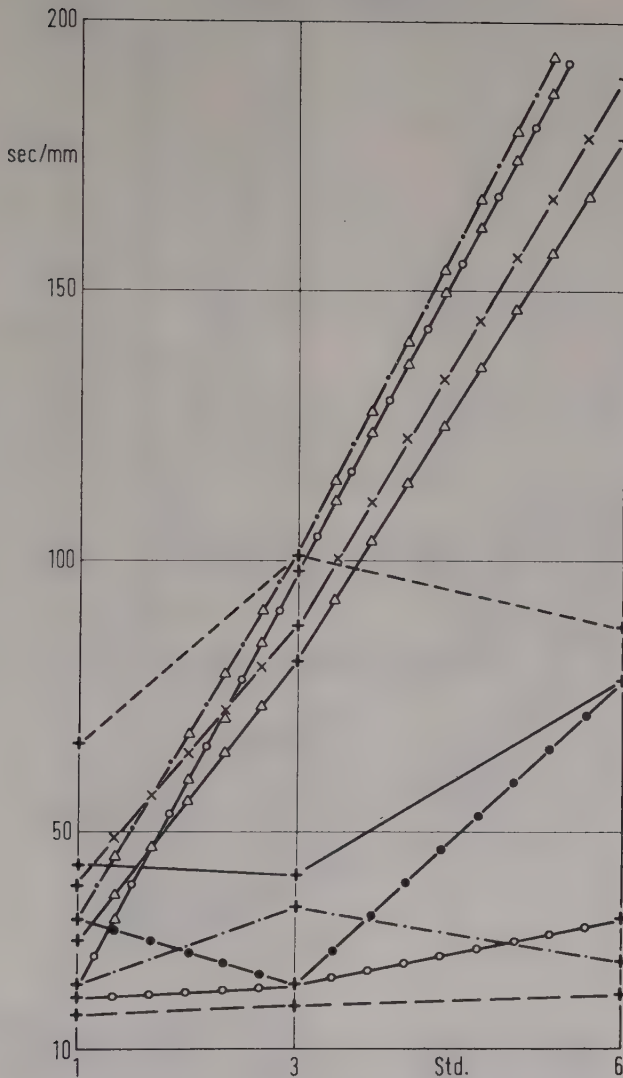


Abb. 5b Dasselbe Beispiel aus der Gruppe 3, die qualitative Spermienmotilität betreffend.

Gruppe 3

Quantitative Motilität

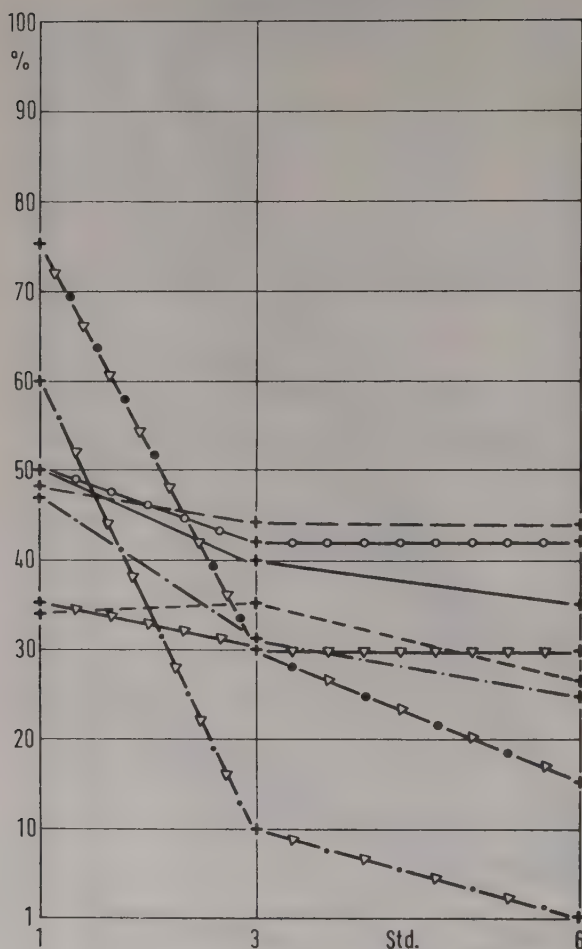


Abb. 6a Ein weiteres Beispiel aus der Gruppe 3, 7 Untersuchungen umfassend, in denen das Serum von anderen Medien in bezug auf die quantitative oder qualitative Spermienmotilität übertroffen wurde.

Gruppe 3

Qualitative Motilität

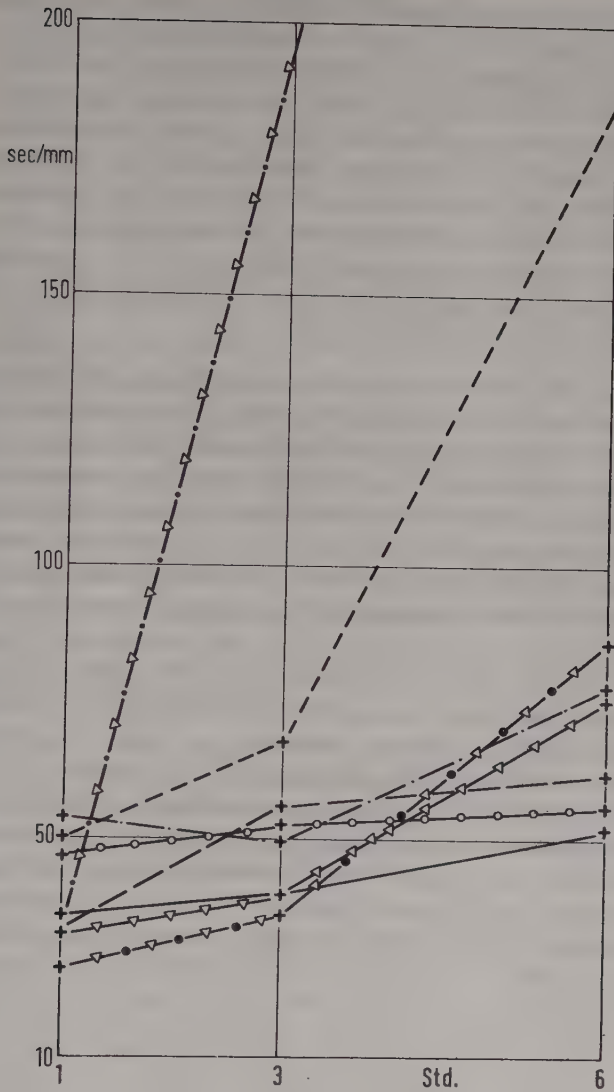


Abb. 6b Dasselbe Beispiel aus der Gruppe 3, die qualitative Spermienmotilität betreffend.

Es fiel auf, daß die Herkunft der einzelnen Seren - hinsichtlich Spender, Blutgruppe und Rhesusfaktor - keinen Einfluß auf die Spermienmotilität hatte. So wurde z.B. bei allen Untersuchungen, bei denen Zeit dadurch gewonnen war, daß kein Cervixsekret zur Beurteilung vorlag, ein zusätzliches Serum einer anderen Blutgruppe bzw. mit einem anderen Rhesusfaktor mitgetestet. Hierbei fielen keine nennenswerten Motilitätsunterschiede auf. Auch das Eigenserum stimulierte die Spermien nicht mehr als die heterologen Seren. 35 günstigste quantitative Motilitätsergebnisse im Eigenserum standen 34 im heterologen Serum gegenüber; qualitativ waren es 33 im Eigenserum gegenüber 32 im heterologen Serum.

Nachdem sich während der Untersuchungsreihe vermuten ließ, daß das Serum das stärkste Stimulans für die Spermienmotilität sein würde, kam es zu der Überlegung, Cervixsekret mit Serum zu mischen und auch in diesem Milieu die Motilität zu beobachten. Therapeutische Erwägungen - in bezug auf die künstliche Insemination - bestärkten uns darin, dieses Medium mit in unsere Untersuchungen einzubeziehen. In 19 von 26 Fällen stellte dieses Cervixsekret - Serum - Gemisch ein günstigeres Medium für die Spermienmotilität dar als Cervixsekret ohne Serumzusatz. Allerdings wurde dieses positive Ergebnis durch die Beobachtung eingeschränkt, daß es in diesem Gemisch häufig zu einer z.T. ausgeprägten Agglutination der Spermien kam, deren Ursache uns nicht bekannt und deren Bedeutung nicht klar abzusehen ist. Nicht nur im Cervixschleim-Serum-Gemisch, auch im Nativpräparat, im Cervixsekret oder Serumzusatz, im Serum allein und ebenso in BAKER- und Glukose-Ringer-Lösung fielen diese Spermienkonglomerate auf. Es wurde nicht nach Kopf- und Schwanzagglutinationen differenziert, da dies für unsere Fragestellung uninteressant war.

Folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Verteilung der Spermienkonglomerate in den einzelnen Medien:

	Nativpräp.	CKS	CKS-Serum-Gemisch	Serum
Konglomerate	27 x von 70	20x von 31	19 x von 26	11 x von 70

Man könnte nun annehmen, das Serum sei auch in bezug auf die Konglomeratbildung besonders geeignet als Zusatzmedium für die Spermien. Es muß aber erwähnt werden, daß Größe und Zahl der Konglomerate nur subjektiv bestimmbar waren; es ist aber nicht unwesentlich, ob nur vereinzelt oder gehäuft, nur kleine oder auch große Konglomerate in den einzelnen Medien gefunden wurden. Bei diesem Schätzverfahren hatten wir den Eindruck, als seien die Konglomerate im Cervixsekret-Serum-Gemisch besonders zahlreich und auch größer gewesen. Außerdem zeigte sich, daß bei dem Sperma, das in einem Milieu Konglomerate aufwies, auch in den weiteren Medien gehäuft Konglomerate auftraten.

Die Ausnahmen von dieser Beobachtung sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Anzahl d. Fälle	Nativpräp.	CKS	CKS-Serum-Gemisch	Serum
3	+	-	-	-
3	+	-	-	+
1	+	+	-	-
1	+	-	+	-

5. DISKUSSION

5.1. THEMA

Wir haben die Beeinflußbarkeit der Spermienmotilität durch Zusatz verschiedener Medien untersucht, da es uns wichtig erschien, ein Milieu zu finden, das sowohl die quantitative als auch die qualitative Motilität menschlicher Spermien am stärksten fördert. Die Untersuchungen liefen jeweils über 24 Stunden, weil eine gute Initialbeweglichkeit noch kein Garant ist für eine zur Befruchtung ausreichende Bewegungsdauer. Darüber hinaus wurden die Einzelmessungen in den kürzesten Zeitabständen, die praktisch möglich waren, durchgeführt, um einen Überblick über den Motilitätsverlust zu gewinnen. Die Zahl der verwandten Medien wurde auf fünf begrenzt, da sonst die Einzelmessungen einen zu großen Zeitraum beansprucht hätten, und damit die möglichst kurzen Intervalle zwischen zwei Messungen in einem Medium nicht mehr gewährleistet gewesen wären. BAKER- und Glukose-Ringer-Lösung boten sich als bereits bewährte "Wiederbelebungsflüssigkeiten" an. Der Cervixschleim als das natürliche Milieu für die Spermien war naheliegend. Das Blutserum, obwohl schon frühzeitig als Testmedium in der Literatur erwähnt, schien uns in dem Umfang noch nicht als Vergleichsmedium mithinzugezogen worden zu sein. Die Untersuchung der Spermienmotilität in einem Cervixsekret-Serum-Gemisch ergab sich im Verlauf der Beobachtungen hinsichtlich einer therapeutischen Anwendung.

5.2. Schwierigkeiten

Eine große Schwierigkeit bestand in der Gewinnung des Cervixsekretes zum Zeitpunkt der vermuteten Ovulation. Wir machten uns deshalb die Feststellung zunutze, daß das Sekret bis zu mehreren Tagen bei 4° C aufbewahrt werden konnte, ohne seine Penetrierbarkeit zu verlieren.

FJÄLLBRANT (1969) (9), MOGHISSI (1970) (25) und BECK (1971) (1) haben ebenfalls mit gekühltem Schleim gearbeitet, ohne eine

Beeinträchtigung seiner Funktion zu sehen. In einzelnen Fällen stellten wir allerdings fest, daß Sekret, das nicht ausreichend der Zimmertemperatur unmittelbar vor der mikroskopischen Untersuchung akklimatisiert worden war, sich als spermatocid erwies. Auch das Serum wurde zuweilen mehrere Tage lang - maximal 12 Tage - in einer Umgebungstemperatur von 4°C belassen. Es konnte zwar das sog. Stechapfel- bzw. Geldrollenphänomen beobachtet werden, doch wurde die Spermienmotilität dadurch offensichtlich nicht beeinträchtigt.

5.3. Untersuchungsgang

a) Temperaturfaktor

Wie schon in Tab. 1 erwähnt, spielen die Temperaturverhältnisse für die Spermienmotilität eine wesentliche Rolle. Die Angaben über ein Temperaturoptimum variieren in der Literatur sehr. Wir haben eine konstante Umgebungstemperatur zwischen 20°C und 25°C für die Messungen eingehalten. Schwankungen innerhalb dieses Temperaturbereiches können die Ergebnisse beeinflussen, doch halten wir das für nicht so bedeutend, da sie im vorliegenden Untersuchungsgut praktisch vergleichbar sind.

b) Ejakulatmenge

SILLØ-SEIDL (35) machte darauf aufmerksam, daß eine Beziehung zwischen Ejakulatmenge und Motilitätsverhalten der Spermien bestehe. So seien Quantitäten von mehr als 1,5 ml häufig mit einer Herabsetzung der Gesamtmotilität verbunden. Auch JOEL (14) wies darauf hin, daß große Ejakulatmengen häufig, sehr kleine Mengen dagegen fast obligatorisch mit einem pathologischen Motilitätsverhalten verbunden seien. Uns standen 12 Ejakulate mit Mengen von 0,6 - 1,3 ml und 12 weitere mit Mengen von 2,6 - 3,0 ml zur Verfügung. Aus der ersten Gruppe entsprachen 7 Ejakulate nicht den Anforderungen an eine ausreichende

quantitative Motilität gegenüber 9 Ejakulaten aus der zweiten Gruppe. 3 Ejakulate der Gruppe 1 zeigten schlechte qualitative Motilität gegenüber ebenfalls 3 Ejakulaten der Gruppe 2. Wir können somit SILLØ-SEIDL's und JOEL's Beobachtungen nicht unterstreichen; nur 12 Fälle sind allerdings ein zu kleines Vergleichsmaterial. MAC LEOD und GOLD (13) fanden 1952 heraus, daß keine enge Beziehung zwischen Ejakulatmenge und Fertilität bestände.

c) Reihenfolge der Messungen

Um möglichst konstante Bedingungen für die Untersuchungen zu schaffen, wurden die einzelnen Messungen in einer bestimmten Reihenfolge durchgeführt (s. Untersuchungsschema). BAKER- und Glukose-Ringer-Lösung wurden vor den einzelnen Seren, dem Cervixsekret und dem Sekret-Serum-Gemisch beurteilt; und zwar lagen zwischen der Erstmessung in der BAKER-Lösung und der letzten Messung im Sekret-Serum-Gemisch ca. zwei Stunden - eine beträchtliche Zeit, wenn man an den Motilitätsverlust vor allem der initial sehr lebhaften Spermien denkt. Dieser Faktor muß bei der Beurteilung der einzelnen Medien mitberücksichtigt werden; er zeigt, daß die Spermienmotilität in den Seren und Cervixsekreten noch günstiger zu bewerten ist bzw. trotz der regelmäßig viel später einsetzenden Messungen in diesen Medien so gute Ergebnisse erzielt wurden.

d) Zählmethode

Weiterhin muß beachtet werden, daß im Nativpräparat sowie im Cervixsekret die Zahl der beweglichen Spermien nur geschätzt werden konnte. Beide Medien - Sperma und Cervixschleim - erwiesen sich als zu viskös, um die NEUBAUER-Zählkammer damit zu beschicken. Mehrere Versuche scheiterten, da das mikroskopische Bild so vielschichtig war, daß eine exakte Zählung unmöglich wurde. Die Ergebnisse differierten bei wiederholten Zählungen weit mehr als bei dem Schätzverfahren. Die Möglichkeit, Sperma und Cervixsekret zu verdünnen, wurde nicht durch-

geführt, da verschiedene Autoren (s.o.) angeben, daß die Spermienmotilität in verdünntem Sperma ansteige. GRANZOW (12) wies darauf hin, daß eine zu starke Verdünnung die Motilität wiederum herabsetze.

e) Aus dem Rahmen fallende Werte

Es fielen einige wenige Untersuchungsergebnisse auf, die initial eine schlechtere quantitative und/oder qualitative Motilität erbrachten als nach 3 oder sogar 6 Stunden. Ein Grund dafür mag die von GRANZOW (12) erwähnte "Schüttellähmung" sein; zu langes Schütteln der Spermien setze ihre Motilität herab. Das Schütteln ist jedoch notwendig, um eine gleichmäßige Verteilung der Samenfäden im Sperma zu gewährleisten. Aus technischen Gründen konnten wir die Schütteldauer nicht konstant halten, während die Schüttelintensität maschinell festgelegt war.

f) Medien

Wie bereits oben erwähnt haben sich SCHIRREN und Mitarbeiter 1969 mit der Spermienmotilität in hämolysiertem Blut unter Zusatz von Katalase befaßt (28). SCHIRREN differenzierte die qualitative Motilität nur nach sehr lebhaft und mäßig beweglichen sowie unbeweglichen Spermien. Da wir die Linienmethode nach SILLØ-SEIDL zur exakteren Bestimmung gewählt haben, lassen sich unsere Ergebnisse nicht miteinander vergleichen. Ebenso werden Unterschiede zwischen hämolysiertem Blut und Serum bestehen. Es ist hinzuzufügen, daß SCHIRREN besonders ausgewählte Ejakulate mit möglichst hohem Motilitätsgrad benutzte, wir dagegen keine Auswahl des Spermias trafen.

MILBRADT untersuchte 1969 die Spermienmotilität im Blutplasma und vergleichend in physiologischer Kochsalzlösung (21). Er arbeitete im Gegensatz zu uns mit zentrifugierten Spermien und machte deutlich, daß diese Spermien im Blutplasma am zahlreichsten am Leben bleiben, dagegen eine Motilitätsverschlechterung

im physiologischen Kochsalzmilieu gegenüber dem Nativpräparat zeigen. In Vorversuchen haben auch wir mit NaCl-Lsg. gearbeitet und eine Herabsetzung bereits der Initialmotilität gefunden.

MOGHISSI (24) wies auf Veränderungen der biologischen Aktivität der Spermien durch das Zentrifugieren hin.

Wieweit Blutgruppe und Rhesusfaktor die spermienaktivierende Fähigkeit des Serums beeinflussen, wurde nur von wenigen Wissenschaftlern untersucht. So verneinen MOENCH (23) sowie LOTZE und SCHULTZ (18) irgendeine Bedeutung in diesem Zusammenhang; das stimmt mit unseren Beobachtungen überein. Wir haben - wie bereits oben erwähnt - das Motilitätsverhalten im RH - und rh-Serum der verschiedenen Blutgruppen getestet und nahezu identische Ergebnisse erhalten.

KEPP und VASTERLING (17) wiesen darauf hin, daß Hyaluronidasezusatz zu Spermien mit primär guter Motilität einen Abfall der Bewegungsgeschwindigkeit bedingt, während primär schlechte Motilität gebessert werden kann. In unseren Untersuchungen gaben wir die Hyaluronidase zu gut beweglichen Spermien hinzu und stellten eine Motilitätsverschlechterung fest.

Über die Erfolgsaussichten eines Hyaluronidasezusatzes zum Sperma gehen die Autorenansichten weit auseinander. So gaben KURZROK und ROWLANDS sowie LEONHARD und CONRAD (15) gute Erfolge mit der Hyaluronidase bei der Insemination an, während DÖRING (6) keine Verbesserung der Befruchtungschancen sah. VASTERLING (38) stellte fest, daß Hyaluronidasezusatz zu oligozoospermen Ejakulaten keine Erhöhung der Erfolgsrate bei Inseminationen zur Folge habe.

MOGHISSI berichtete 1970 (25) über die "spermienfreundliche" Wirkung des Trypsins, das den Cervixschleim hydrolysiert und damit den Spermien optimale Penetrationsmöglichkeiten bietet. Unsere Beobachtungen mit dem Proteolysehemmer Trasylol weist in die gleiche Richtung; die Penetrationsfähigkeit der Spermien wur-

de herabgesetzt bzw. erlosch vollständig. Es wäre interessant, weitere Untersuchungen mit verschiedenen Proteinasen durchzuführen, um die Vermutung, daß ein Serum-Proteinasen-Gemisch einen besonders geeigneten Zusatz für die Insemination darstellt, bestätigen zu können.

g) Konglomerate

Wie oben beschrieben, haben wir in zahlreichen Fällen Spermienkonglomerate in allen Medien vorgefunden. Es bestanden lediglich starke Schwankungen in Zahl und Größe. Die Genese dieser Konglomerate ist wohl als multifaktoriell bedingt anzusehen und hat auch - besonders in den letzten Jahren - die Autoren zu zahlreichen Arbeiten zu diesem Thema veranlaßt. Wir beobachteten, daß bereits pH-Verschiebungen, d.h. Abweichungen von der Norm, zur Spermienkonglomeratbildung führten. Wir fanden in 20 von 26 Ejakulaten mit einem pH-Wert von mehr als 7,5 z.T. zahlreiche Konglomerate; in einem gleich großen Kontingent mit normalem pH-Wert nur 14 mit Agglutinationen. Viermal wurde ein pH-Wert von weniger als 7,2 gemessen; in diesem Milieu kam es einmal zur Konglomeratbildung. Diese Beobachtungen werden durch Untersuchungen von VASTERLING (38) und JOEL (15) bestätigt.

Die Einwirkung von Schwermetallen wie z.B. Eisen, Aluminium, Blei, Zink, Kobalt und Kadmium auf die Entstehung von Spermienkonglomeraten konnte nicht untersucht werden.

Wir sahen keine Korrelation zwischen Konglomeratbildung und Blutgruppe wie dies von SVARZMANN (1928), STENSING (1930) (15) sowie LÜDERS (1970) (20) beschrieben wurde.

Ebenso soll eine Beziehung zur ABO-Inkompatibilität bestehen. Diese Annahmen wurden von FJÄLLBRANT 1968 (8) und GLASS 1970 (11) bestritten.

WILLIAMS erwähnte 1970 (39), daß im Serum der Ehefrau die Spermienmotilität ansteige und keinerlei Konglomeratbildung vorläge. Wir haben in 7 von 29 Fällen auch Konglomerate im Serum der Ehefrau gefunden.

ECKERLING hat bereits 1960 (7) mit Serum inseminiert und Erfolg damit gehabt, nur geht aus der Studie nicht deutlich hervor, ob bzw. wie sehr auf diese Weise die sonst übliche Erfolgsquote übertroffen wird. ECKERLING verwandte außerdem zentrifugierte Spermien.

Eine gewisse Sperma-Immunität infolge pathologischer Spermienresorption seitens der Frau wurde schon früh postuliert und festgestellt. Laut MOENCH (23) haben bereits METSCHNIKOFF, LANDSTEINER, MC CARTNEY, MAYER und VOGT darüber zu Beginn dieses Jahrhunderts berichtet. STIASNY erwähnte dieses Phänomen 1944 (36). Wir haben dies nicht nachgeprüft, da es über die Thematik der Arbeit hinausgeht.

Eine wichtige Frage erschien uns die Beziehung zwischen Spermienmotilität und Konglomeratbildung. Wir sahen keinerlei Zusammenhang. WILSON berichtete 1956 (40), im Cervikalschleim sowie bei sehr niedrigen Temperaturen keine Agglutinationen gesehen zu haben, da in beiden Fällen die Beweglichkeit der Samenfäden zu gering gewesen sei. Unsere Untersuchungsergebnisse weichen in bezug auf die Konglomeratbildung im Cervikalschleim von WILSON ab, denn gerade in diesem Milieu, im Vergleich zu anderen, waren die Konglomerate besonders ausgeprägt. Die Beeinflussung durch Abweichungen vom Temperaturoptimum konnte uns nicht auffallen, da wir unter möglichst konstanten Temperaturverhältnissen gearbeitet haben.

Wir sahen also häufig Konglomerate im Cervixsekret; WILLIAMS dagegen beobachtete (39), daß im Cervixschleim nur dann Verballungen auftreten, wenn eine Autoagglutination vorliege. Weiterhin sagte er: "One can hardly escape the conviction that an extensive sperm autoagglutination should be considered as highly inimical to the ability for fertilization, yet the fact remains that some members of the sperm populations invariably appear quite normal, that the agglutination is not always constant and that many conceptions occur in these cases in spite of the presence of large agglutinated masses of spermatozoa."

Dieses Zitat gibt eine Antwort auf unsere Frage, inwieweit Sperma mit z.T. agglutinierten Spermien noch für eine Insemination geeignet ist. Die Konglomeratbildung darf demnach nicht überschätzt, aber auch nicht vernachlässigt werden.

Als Letztes sei noch auf die sog. Sperma-Antikörper hingewiesen. FJÄLLBRANT berichtete (10), daß das Vorhandensein von Sperma-Antikörpern meist mit einer Konglomeratbildung verbunden sei, darüber hinaus mit einem Verlust der quantitativen sowie qualitativen Spermienmotilität. FJÄLLBRANT untersuchte 1968 (8) 500 Männer aus fertilen Ehen und stellte sie 400 Männern aus sterilen Ehen gegenüber. Dabei fanden sich 2,6 % Antikörper bei den fertilen, 6,8 % bei den Männern aus den sterilen Ehen. 1969 (9) stellte er fest, daß ein geringer Antikörpertiter nur die Spermienmotilität, ein höherer auch die Penetrierfähigkeit der Spermien beeinflusse. Primär sehr motile Samenfäden wurden von einer Zugabe von Antikörpern nur wenig beeinflusst. DAPUNT fand bereits 1967 (4) in 1,64 % der fertilen gegenüber 10 % der infertilen Ehen Antikörper. In ca. 50 % der untersuchten Fälle waren die Antikörper gegen abnormes Sperma gebildet worden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Es wurde die quantitative und qualitative Motilität menschlicher Spermien in verschiedenen Medien untersucht.
- 2) 70 männliche Probanden standen neben 29 Ehefrauen und 16 weiteren Frauen aus der Sprechstunde für kinderlose Ehepaare zur Verfügung.
- 3) Die Spermien wurden mit der NEUBAUER-Zählkammer nach beweglichen und unbeweglichen differenziert.
- 4) Die qualitative Motilitätsmessung erfolgte mit der SILLØ -SEIDL-Linienmethode.
- 5) Die Untersuchungen wurden nach 1, 3, 6 und 24 Stunden mit Hilfe eines 10er Okulars und eines 40er Objektivs durchgeführt.
- 6) Als Medien dienten die BAKERSche Lsg., 5%ige Glukose-Ringer-Lsg., Serum des Mannes, der Ehefrau und einer weiteren Frau, Cervixsekret zum Ovulationstermin beider Frauen sowie ein Cervixsekret - Serum - Gemisch.
- 7) In 40 Fällen war das Serum - gleich welcher Herkunft - das günstigste Milieu für die Spermienmotilität.
- 8) In 23 Fällen war entweder die qualitative oder die quantitative Motilität der Spermien im Serum am besten.
- 9) 7 mal wurde das Serum von anderen Medien übertroffen.
- 10) Inwieweit Serum bei der künstlichen Insemination ohne Vermehrung der Spermienagglutinationen hinzugegeben werden kann, müssen in vivo-Untersuchungen klären.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Beck, K.J.: Cervikale Faktoren als Ursache der Sterilität.
Der Gynäkologe, Bd. 3, Heft 4, 141 (1971)
2. Botella-Llusia, J.: La progression spermatique dans le serum sanguin.
Kongreßberichte des I. Europäischen Sterilitätskongresses, Venedig (1967)
3. Chang, M.C. et alii: Effects of Urine on Motility and Fertilizing Capacity of Rabbit Spermatozoa.
Fert. and Ster. 9, 231 (1958)
4. Dapunt, O.: Die Bestimmung spemaagglutinierender Antikörper bei der Frau im Rahmen des Sterilitätsstatus.
Kongreßbericht des I. Europäischen Sterilitätskongresses, Venedig (1967)
5. Doepfmer, R.
u. Freihoff, W.: Untersuchungen über Motilität und Lebensdauer von Hodenspermatozoen.
Klin.Wschr. 34, 275 (1956)
6. Döring, G.K.: Die homologe künstliche Insemination.
Der Gynäkologe, Bd. 3, Heft 4, 152 (1971)
7. Eckerling, B.: Sterility due to oligospermia and hypokinesis of the sperm.
New method of treatment.
Fert. and Ster. 11, 475 (1960)
8. Fjällbrant, B.: Sperm agglutinins in sterile and fertile men.
Acta obstet. gynec. scand. 47, 89 (1968)
9. Fjällbrant, B.: Cervical mucus penetration by human spermatozoa treated with anti-spermatozoal antibodies from rabbit and men.
Acta Obstetricia of Gynecologia Scandinavia XLVIII, No. 1, P. 71 (1969)

10. Fjällbrant, B.
u. Obrant, O.: Clinical and seminal findings
in men with sperm antibodies.
Acta obstet. gynec. scand. 47,451
(1968)
11. Glass, R.H.
u. Vaidya, R.A.: Sperm - Agglutinating Antibodies
in Infertile Women.
Fert. and Ster. 9,657 (1970)
12. Granzow, B.: Biologische, serologische und
pharmakologische Untersuchungen
an den Spermien des Meerschwein-
chens und des Menschen.
Arch. Gynäk. 148,149 (1932)
13. Hartman, C.: Science and the Safe Period.
(A Compendium of Human Repro-
duction)
The Williams & Wilkins Company,
Baltimore (1962)
14. Joel, Ch.A.: Die Spermauntersuchung und ihre
praktische Bedeutung.
Schweiz. med. Wschr. 74,759 (1944)
15. Joel, Ch.A.: Studien am menschlichen Sperma.
Schwabe & Co., 2. Aufl., Basel
(1953)
16. Kellerman, A.S.
u. Weed, J.C.: Sperm Motility and Survival
in Relation to Glucose Concentra-
tion: An In Vitro Study.
Fert. and Ster. 11,802 (1970)
17. Kepp, R.K.
u. Vasterling, H.W.: Zur Frage der praktischen Bedeu-
tung der Spermahyaluronidase.
Dtsch. med. Wschr. 79,287 (1954)
18. Lotze, H.
u. Schultz, W.: Spermatozoon und Schwangerschaft.
Zbl. Gynäk. 56,732 (1932)
19. Lübke, F.: Fertilitätsstörungen beim Manne
aus gynäkologischer Sicht.
Vortrag vor der Berliner Derma-
tologischen Gesellschaft am
11.11.1967
20. Lüders, G.
u. Adam, W.: Zur Abgrenzung von Immunreaktionen
bei männlichen Fertilitätsstörungen.
Andrologie 2 (1970)
Zschr. f. Probl. d. Zeugungsfähkt.
d. Mannes

21. Milbradt, R.: Untersuchungen über die Motilität von zentrifugierten Spermatozoen nach Inkubation in Blutplasma und physiologischer NaCl-Lösung. *Andrologie* 2,81 (1969)
22. Moench, G.L.: Studien zur Fertilität. Beilageheft zur Zschr.f.Geburtsh. u. Gynäk., Bd. 99, Ferd. Enke-Verlag, Stuttgart (1931)
23. Moench, G.L.: Männliche Fruchtbarkeit. Seitz-Amreich, Bd. III, Urban & Schwarzenberg-Verlag (1955)
24. Moghissi, K.S.: Cervical Factor In Infertility. *The Journal of Reproductive Medicine*, Vol. 3, No.3,142 (1969)
25. Moghissi, K.S.
u. Syner, F.N.: Studies on human cervical mucus: mucoids and their relation to sperm penetration. *Fert. and Ster.* 3,234 (1970)
26. Schirren, C.: Einfluß von Serumgonadotropin (PMS) auf menschliche Spermatozoen. *Der Hautarzt*, 14. Jahrgang, 4.Heft 166 (1963)
27. Schirren, C.: Praktische Andrologie. Verlag Brüder Hartmann, Berlin 91 (1971)
28. Schirren, C.
u. Körte, C.
u. Grell, H.: Experimentelle Untersuchungen zur Beeinflussung der Spermatozoen - Motilität durch einen Zusatz von Katalase. *Andrologie* 2,75 (1969)
29. Schwartz, R.: Some Factors Modifying Sperm Progression. *Fert. and Ster.* 6,450 (1955)
30. Schwartz, R. et alii: Evidence of Chemotaxis as a Factor in Sperm Motility. *Fert. and Ster.* 9,300 (1958)
31. Slunsky, R.: Über die Ursachen der Sterilität in der poliklinischen Praxis sowie die therapeutischen Ergebnisse. *Zbl. f. Gynäk.* 91,551 (1969)

32. Stiasny, H.: Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen auf die Beweglichkeit und Morphologie der Spermatozoen. Erbkrankheit und Fertilität, 116 (1937)
33. Stiasny, H.: Ursachen der männlichen Unfruchtbarkeit. Zbl. Gynäk. 67,658 (1943)
34. Stiasny, H.: Unfruchtbarkeit beim Manne. Diagnostik und Therapie mit Verwendung des Spermioграмms. Ferdinand Enke-Verlag, 128 Stuttgart (1944)
35. Sillø-Seidl, G.: Bewegungslehre der menschlichen Samenfäden. S. Karger-Verlag, Basel (1963)
36. Vasterling, H.W.: Zur Frage der spermabiologischen Bedeutung der Cervix uteri. Arch.gyn. 189,285 (1957)
37. Vasterling, H.W.: Spermienmotilität und Temperaturfaktor. Geburtsh. u. Frauenheilk. 18, 1171 (1958)
38. Vasterling, H.W.: Praktische Spermatologie. Georg Thieme-Verlag, 224 Stuttgart (1960)
39. Williams, W.W.: Autoagglutination of Spermatozoa. Fert. and Ster. 3,222 (1970)
40. Wilson, L.: Sperm Agglutination Due to Auto-antibodies. A new Cause of Sterility. Fert. and Ster. 7,262 (1956)

Das Thema der Arbeit wurde mir von Herrn Prof. Dr. med.
F. LÜBKE überlassen.

Für die zahlreichen praktischen Ratschläge möchte ich
Frau A. EWEIS sehr herzlich danken. In meinen Dank mit
eingeschlossen ist Frau R. HARTWIG, die die Blutgruppen-
bestimmungen durchführte.



LEBENS LAUF

- 1944 am 27.9.44 Geburt als Tochter
des zuvor gefallenen Hauptmanns
Hans Meßmacher und seiner Ehefrau
Ursula, geb. Heese, in Bad Essen,
Krs. Wittlage.
- 1951 Einschulung in Osnabrück.
- 1955-64 Besuch des Gymnasiums für Mädchen
in Osnabrück mit Abiturabschluß.
- 1964-70 Studium an der Medizinischen Fa-
kultät der Freien Universität
Berlin, das mit dem Staatsexamen
abgeschlossen wurde.
- 1970-71 Medizinalassistentenzeit in ver-
schiedenen Berliner Krankenhäusern.
- 1971 Approbation.
- Seitdem Assistenzärztin auf dem
Gebiet der Inneren Medizin und
Röntgenologie.

on 11.12.57 the ...
the ...
the ...
the ...
the ...

1957

the ...

1957

the ...
the ...

1957

the ...
the ...
the ...
the ...

1957

the ...
the ...

1957

the ...

1957

the ...
the ...
the ...

B. Ladewig-Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198